

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-163411**(P2004-163411A)**(43) 公開日 **平成16年6月10日(2004.6.10)**

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/66	GO 1 N 33/66	2 GO 4 5
GO 1 N 27/02	GO 1 N 27/02	2 GO 6 0
GO 1 N 33/483	GO 1 N 33/483	

審査請求 未請求 請求項の数 28 O L 外国語出願 (全 29 頁)

(21) 出願番号	特願2003-300826 (P2003-300826)	(71) 出願人	503085274
(22) 出願日	平成15年8月26日 (2003.8.26)		バイエル・ヘルスケア・エルエルシー
(31) 優先権主張番号	60/406,066		Bayer Healthcare, LLC
(32) 優先日	平成14年8月27日 (2002.8.27)		アメリカ合衆国、インディアナ州、465
(33) 優先権主張国	米国 (US)		14、エルクハート、マイルス・アベニュー
			1884
		(74) 代理人	100078662
			弁理士 津国 肇
		(74) 代理人	100075225
			弁理士 篠田 文雄
		(74) 代理人	100113653
			弁理士 東田 幸四郎
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 全血試料中のグルコース濃度を測定する方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 全血試料からより正確なグルコース濃度を得る方法を提供する。

【解決手段】 全血試料中のグルコース濃度は、グルコース濃度及びヘマトクリット濃度を計測するように適合された電気化学的センサを提供することによって測定することができる。全血試料のヘマトクリット濃度は、電気化学的センサを使用して、電気化学的インピーダンス分光法によって計測される。全血試料の初期グルコース濃度は、電気化学的センサを使用して計測される。全血試料中の偏りのないグルコース濃度は、初期グルコース濃度計測及びヘマトクリット濃度を使用して計算される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

全血試料中のグルコース濃度を測定する方法であって、
グルコース濃度及びヘマトクリット濃度を計測するように適合された電気化学的センサを用意することと、
前記電気化学的センサを使用して、電気化学的インピーダンス分光法によって全血試料のヘマトクリット濃度を計測することと、
前記電気化学的センサを使用して前記全血試料の初期グルコース濃度を計測することと、

前記初期グルコース濃度計測及び前記ヘマトクリット濃度を使用して前記全血試料中の偏りのないグルコース濃度を計算することとを含む方法。 10

【請求項 2】

電流測定モニタリングシステムを使用して前記全血試料の前記グルコース濃度を測定する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記電気化学的センサが、絶縁ベースプレートと、前記ベースプレート上の電極システムと、前記ベースプレートと合して、電極層が前記全血試料と接触することが出来る空間を形成するように適合されたカバーとを含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

前記全血試料中のグルコースと反応する酵素を含む反応層をさらに含む、請求項 3 記載の方法。 20

【請求項 5】

前記反応層中の前記酵素が親水性ポリマーと組み合わされている、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

使い捨てセルフテスト系で実施する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

臨床分析装置で実施する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

前記初期グルコース濃度を計測する前に前記全血試料中の前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 1 記載の方法。 30

【請求項 9】

一つの周波数計測を使用して前記全血試料の前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】

複数の周波数計測を使用して前記全血試料の前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 11】

インピーダンス計測の移相を使用して前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 1 記載の方法。 40

【請求項 12】

約 800 ～ 約 900 Hz の少なくとも一つの周波数で前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】

インピーダンス計測の大きき成分を使用して前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

約 800 ～ 約 10,000 Hz の少なくとも一つの周波数で前記ヘマトクリットの計測を実施する、請求項 13 記載の方法。 50

【請求項 15】

約 1 ～ 約 10, 000 Hz の AC 波形を前記電気化学的センサに印加することをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 16】

約 1 ～ 約 100 mV の AC 波形を前記電気化学的センサに印加することをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 17】

後でフーリエ変換を使用して畳み込み解除される AC 波形を印加することをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 18】

全血試料中のグルコース濃度を測定する方法であって、
グルコース濃度及びヘマトクリット濃度を計測するように適合された電気化学的センサを用意することと、
前記電気化学的センサを使用して、電流測定モニタリングシステムを使用する電気化学的インピーダンス分光法によって全血試料のヘマトクリット濃度を計測することと、
前記電気化学的センサを使用して前記全血試料の初期グルコース濃度を計測することと

、
前記初期グルコース濃度計測及び前記ヘマトクリット濃度を使用して前記全血試料中の偏りのないグルコース濃度を計算することと
を含む方法。

【請求項 19】

使い捨てセルテスト系で実施する、請求項 18 記載の方法。

【請求項 20】

一つの周波数計測を使用して前記全血試料の前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 19 記載の方法。

【請求項 21】

複数の周波数計測を使用して前記全血試料の前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 19 記載の方法。

【請求項 22】

インピーダンス計測の移相を使用して前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 19 記載の方法。

【請求項 23】

約 800 ～ 約 900 Hz の少なくとも一つの周波数で前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 22 記載の方法。

【請求項 24】

インピーダンス計測の大きき成分を使用して前記ヘマトクリット濃度の計測を実施する、請求項 19 記載の方法。

【請求項 25】

約 300 ～ 約 10, 000 Hz の少なくとも一つの周波数で前記ヘマトクリットの計測を実施する、請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】

約 1 ～ 約 10, 000 Hz の AC 波形を前記電気化学的センサに印加することをさらに含む、請求項 19 記載の方法。

【請求項 27】

約 1 ～ 約 100 mV の AC 波形を前記電気化学的センサに印加することをさらに含む、請求項 19 記載の方法。

【請求項 28】

後でフーリエ変換を使用して畳み込み解除される AC 波形を印加することをさらに含む、請求項 19 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本発明は一般に、全血試料中のグルコース濃度を測定する方法、より具体的には、ヘマトクリット濃度を使用して全血試料中のグルコース濃度を測定する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

多年にわたり、人は全血試料中のグルコース濃度を測定しようと試みてきた。全血試料中のグルコース濃度の測定は多様な用途で重要である。たとえば、糖尿病患者にとって、グルコース濃度の測定及びモニタは、危険を減らし、生活の質を改善するのに重要である。このような試験の結果を使用して、もしあればどのインスリン又は他の薬を投与するの
10

【0003】

全血試料中のグルコース濃度は、全血ヘマトクリット濃度に関連する偏りのせいで、測定が難しいことがある。ヘマトクリット濃度とは、全血試料中の赤血球の濃度である。全血試料のヘマトクリット濃度の変動がグルコース濃度計測に偏りを生じさせる。グルコース濃度に対する偏りは、有意な程度、たとえばヘマトクリット濃度の変化1%に対して1%になることもある。

【0004】

全血試料のグルコース濃度を計測するために使用される典型的なセンサは、そのヘマトクリット濃度に依存する。グルコースセンサの化学的性質を変化させることによって全血
20

試料のグルコース濃度の偏りを最小限にする又はなくすための試みを実施されてきた。化学的性質を変化させる一つの例が溶血である。溶血は、赤血球を開裂させ、赤血球の内容物を露出させることを含む。赤血球を開裂させることにより、グルコース濃度を計測するセンサ中での化学反応がより速く起こる。このような試みは一般に、計測されるグルコース濃度に対するヘマトクリット濃度の影響を減らしたが、一般に、実グルコース濃度の測定において理想には遠い結果しか出さない。溶血のもう一つの欠点は、試験過程を実施するのに必要な追加的時間である。さらには、溶血は、グルコース濃度の計測に干渉するおそれのある細胞内容物を露出させるかもしれない。

【0005】

他の試みは、グルコース濃度を計測する前に全血試料から赤血球を取り出すことを含む
30

ものであった。このような取り出し法は、赤血球を取り出すことなく単にグルコース濃度を計測する方法よりも複雑である。さらには、このような技術は、少なめの量の全血、たとえば使い捨てセルフテストマーカで使用される量を使用するとき、より困難になる。

【0006】

グルコース濃度読み値の偏りを最小限にする又はなくすための他の試みは、ヘマトクリット濃度をグルコース濃度とは別に計測することを含むものであった。全血試料のヘマトクリット計測は、導電率の計測を使用して実施されてきた。これらの試みは、種々の欠点、たとえば、ヘマトクリット濃度の計測とグルコース濃度の計測とで別々の電極を要する欠点をかかえている。さらには、この手法は、少なくとも一部の臨床分析装置には適する
40

かもしれないが、使い捨てセルフテストマーカには費用的に使えない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

全血試料からより正確なグルコース濃度を得る方法を有することが望ましいであろう。

【課題を解決するための手段】

【0008】

全血試料中のグルコース濃度は、一つの方法にしたがって、グルコース濃度及びヘマトクリット濃度を計測するように適合された電気化学的センサを用意することによって測定
50

することができる。全血試料のヘマトクリット濃度は、電気化学的センサを使用して、電気化学的インピーダンス分光法によって計測される。全血試料中の初期グルコース濃度は

、電気化学的センサを使用して計測される。全血試料中の偏りのないグルコース濃度は、初期グルコース濃度計測及びヘマトクリット濃度を使用して計算される。

【発明の実施の形態】

【0009】

本発明は、全血試料中のグルコース濃度の測定に関する。全血試料は血 及び赤血球を含む。グルコース濃度はヘマトクリット濃度に基づいて変化するため、グルコース濃度を測定する際には、全血試料のヘマトクリット濃度（赤血球濃度）をも測定する。ヘマトクリット濃度を考慮して補正することにより、より正確な全血試料のグルコース濃度を計算することができる。

【0010】

全血試料のグルコース濃度は、本発明の一つの実施態様の電気化学的センサを使用して測定することができる。電気化学的センサが信頼性及び再現性のある計測を提供するといふことが重要である。電気化学的センサの一例は、電流測定モニタリングシステムで使用することができるセンサである。グルコース濃度を計測するために使用することができる電気化学的センサの例は、Bayer社のGlucometer DEX（登録商標）及びELITE（登録商標）システムで使用されているものである。

【0011】

一つの実施態様によると、電気化学的センサは、電極システムを上 に設けられた絶縁ベースプレートを含む。電極システムは、少なくとも計測用の電極及び対電極を含む。電極システムには、バイオセンシングもしくは試薬物質、たとえば酵素及び電子受容体を含む反応層が含まれる。反応層の酵素は、親水性ポリマーと組み合わされていてもよい。カバーを使用してベースプレートと 合させて、反応層を含む空間を形成することもできる。全血試料が導入口を介してこの空間に導入される。全血試料の流入により、ガスがこの空間から排気口を介して排出される。全血試料中のグルコースが、電極に担持されたグルコースオキシダーゼの作用により、酵素と反応して過酸化水素を生成すると考えられている。電極間に電圧（たとえば1V）が印加され、計測用の電極がアノード方向に分極される。アノード方向に電圧を印加することにより、生成される過酸化水素のための酸化電流が得られる。この電流レベルが全血試料中のグルコース濃度に対応する。

【0012】

このような電気化学的センサに関するさらなる詳細が、いずれも全体を引用例として取り込む米国特許第5, 120, 420号及び第5, 320, 732号で見いだすことができる。1種以上の電気化学的センサは、松下電器産業から購入することができる。他の電気化学的センサを本発明で使用することも考えられる。たとえば、ある電気化学的センサが、全体を引用例として取り込む米国特許第5, 798, 031号に開示されている。電流測定モニタリングシステムで使用することができる電気化学的センサのさらなる例が米国特許第5, 429, 735号に開示されている。他のセンサを本発明で使用することも考えられる。

【0013】

電気化学的センサは、複数のセンサ又は試験要素を収容するセンサパックの中に装填されるように適合されている血糖センサ分与器の中に配置することができる。各センサは、センサパックから弾き出されるように適合されている。センサ分与器に装填されるセンサパックの一例が米国特許第5, 660, 791号に開示されている。

【0014】

全血試料のヘマトクリット濃度の変動から生じる初期グルコース濃度の偏りを減らすために、ヘマトクリット濃度を先に計測することが好ましい。しかし、全血試料の初期グルコース濃度を計測する前にヘマトクリット濃度を計測することも考えられる。初期グルコース濃度を計測するために使用される電気化学的センサが全血試料のヘマトクリット濃度に依存するため、ヘマトクリット濃度が計測されなければならない。全血試料のグルコース濃度を正確に計測する際の最大感度は、高めのグルコースレベル（たとえば250又は400mg/dL）で生じる。このようなグルコースレベルでは、低め又は高めのヘマトクリ

10

20

30

40

50

ット%値（たとえば20容量%又は70容量%）が、平均的なヘマトクリット濃度（たとえば40容量%）と比較して、初期グルコース濃度計測値と実グルコース濃度との間で実質的な偏差を生じさせる。

【0015】

計測されるグルコース濃度に対する全血試料のヘマトクリット濃度の影響は、電流測定モニタリングシステムにおける電気化学的センサでは一貫していると考えられている。計測されるグルコース濃度に対するヘマトクリット濃度のこの一貫性は、使い捨て電流測定モニタリングシステム及び臨床分析装置の両方で生じる。このように、偏りがあるとしても、ヘマトクリット濃度を計測したのち初期グルコース計測値を調節することによってそれを修正することができる。

10

【0016】

ヘマトクリット濃度は、全血試料の初期グルコース濃度を測定するものと同じ電気化学的センサを使用して測定される。一つの実施態様によると、ヘマトクリット濃度は、グルコースモニタリングシステム、たとえば上記電流測定モニタリングシステムに統合される電気化学的インピーダンス分光法（EIS）を使用して測定される。EISは、本質的には、一つの周波数又は複数の周波数をカバーする溶液インピーダンス計測である。全血試料の計測インピーダンスが高いほど、その中のヘマトクリットの濃度は高い。

【0017】

電気化学的センサは、一般には約1〜約10,000 HzのAC波形を印加することによって使用することができる。AC波形が10,000 Hzよりも高いことも考えられる。AC波形は、電圧が変化することができるが、一般には約1〜約100 mV、より具体的には約3〜約30 mVである。AC波形は、離散的周波数又は後でフーリエ変換（FT）ルーチンを使用して畳み込み解除されるcoaddedされた波形のいずれかである。フーリエ変換法は、他の技術に対して計測時間を有意に減らすため、望ましい。フーリエ変換以外の技法を使用してヘマトクリット濃度の最終的測定を支援することもある。

20

【0018】

一以上の周波数計測を使用する代わりに、又はそれに加えて、インピーダンス計測の移相及び／又は大きさを使用してヘマトクリット濃度を計測してもよい。得られるインピーダンスの移相及び／又は大きさを各周波数で計測する。AC波形を、たとえば、電気化学的センサを作動させることができる印加電位である150 mVのバイアス電圧に重畳する。インピーダンス計測の移相及び／又は大きさを比較することにより、ヘマトクリット濃度を測定することができる。インピーダンス計測の移相及び／又は大きさをヘマトクリット濃度間で容易に区別することができる周波数を使用することが望ましい。

30

【0019】

インピーダンス計測の移相の計測で使用することができる周波数の例は、約800〜900 Hzの周波数を含む。他の周波数をインピーダンス計測の移相の計測に使用することも考えられる。インピーダンス計測の大きさの計測で使用することができる周波数の例は、約300〜10,000 Hzの周波数を含む。他の周波数をインピーダンス計測の大きさの計測に使用することも考えられる。

【0020】

ヘマトクリット濃度を測定したのち、それを使用して、全血試料中の初期グルコース濃度計測に伴う偏りがあるならばそれを修正する。ヘマトクリット濃度と初期グルコース濃度計測値との間に関係又は偏りがあるならば、それを校正テーブルに記憶してもよい。校正テーブルは通常、多数のヘマトクリット濃度及び初期グルコース濃度計測値を使用して生成される。初期グルコース計測に対してヘマトクリット濃度によって加えられる偏りを考慮して修正を加えることにより、より正確な全血グルコース計測値が測定される。

【0021】

ヘマトクリット濃度によって生じる偏りを減らす又はなくすことによってグルコース濃度をより正確に測定する方法は、使い捨てセルフテスト系で実施することができる。使い捨てセルフテスト系は、最終消費者、特に糖尿病患者である最終消費者によって使用され

50

ることが多い。あるいはまた、ヘマトクリット濃度によって生じる偏りを減らす又はなくすことによってグルコース濃度をより正確に測定する方法は、臨床分析装置で実施することもできる。臨床分析装置は、病院や診療所で使用されることが多い。

【0022】

本発明は、新生児（生後1ヶ月未満）に関して特に望ましい。新生児は通常、相当に高い血中ヘマトクリット濃度を有する（正常範囲は約55容量%～65容量%）。成人だけでなく新生児にも起こりうる症状の一つが低血糖症である。低血糖症に関して、新生児における判定点は成人の判定点よりも低い（40mg/dL対60mg/dL）。低めのグルコース濃度と高めのヘマトクリット濃度との組み合わせは、ヘマトクリット濃度の偏りから生じる非常に不正確な初期グルコース読み値につながるおそれがある。したがって、本発明は、新生児の全血試料中のグルコース濃度を測定する際に望ましい。

10

【0023】

センサの試験端は、試験される全血試料と接する状態に配置されるように適合されている。全血試料は、穿刺装置、たとえばマイクロレットによって生成することができる。穿刺装置は、たとえば人の指を刺すことによって血液を得ることができる。一つの方法によると、全血試料は、(a)電気化学的センサをパケットから取り出し、(b)電気化学的センサをグルコース濃度計測器に入れ、(c)全血試料を生成し、(d)センサと全血試料とを接触させて、毛管作用によって血液をセンサ中に引き込むことにより、試験のために準備することができる。

【実施例】

20

【0024】

(a)ヘマトクリットレベルと、(b)移相、グルコース濃度、周波数及びインピーダンスとの関係を示すため、いくつかのグラフを作成した。

【0025】

図1は、全血試料の移相対周波数のグラフである。全血試料は300mg/dLのグルコース濃度を有し、ヘマトクリット濃度は、20容量%、40容量%又は60容量%のいずれかであった。試験は、Bayer社のGlucometer DEX（登録商標）システムで、3パス試薬電気化学的センサを使用して実施した。この電気化学的センサを150mVの印加電位で作動させた。周波数（ヘルツで計測）をx軸に対数的に標定し、それに対し、移相（度で計測）をy軸に標定した。図1は、異なるヘマトクリット濃度の間で明瞭な移相を生じさせる周波数が多くあることを示す。異なるレベルのヘマトクリット濃度の間で移相がより顕著に出る周波数を選択することが望ましい。

30

【0026】

図2は、全血試料のインピーダンス（Ω）対周波数のグラフである。全血試料は100mg/dLのグルコース濃度を有し、ヘマトクリット濃度は、20容量%、40容量%又は60容量%のいずれかであった。試験は、Bayer社のGlucometer DEX（登録商標）システムで、3パス試薬電気化学的センサを使用して実施した。この電気化学的センサを150mVの印加電位で作動させた。周波数（ヘルツで計測）をx軸に対数的に標定し、それに対し、インピーダンス（オームで計測）をy軸に標定した。図2は、異なるヘマトクリット濃度の間で明瞭なインピーダンス計測を生じさせる周波数が多くあることを示す。異なるレベルのヘマトクリット濃度の間でインピーダンス計測がより顕著に出る周波数、たとえば高めの周波数を選択することが望ましい。

40

【0027】

図3は、全血試料の移相対ヘマトクリットのグラフである。いくつかのグルコース濃度：0mg/dL、50mg/dL、100mg/dL、300mg/dL及び600mg/dLを試験した。各グルコース濃度を図3で別々に標定した。図3のグラフを形成するのに使用した個々のデータ点を以下の表1に一覧する。

【0028】

【表 1】

表 1

試験 No.	グルコース濃度 (mg/dL)	ヘマトクリット濃度 (容量%)	移相 (度)
1	0	20	26.02
	0	20	26.52
2	0	40	21.75
	0	40	22.07
3	0	60	17.78
	0	60	17.67
4	50	20	22.98
	50	20	25.43
	50	20	26.56
5	50	40	21.34
	50	40	20.58
6	50	60	16.35
	50	60	17.46
7	100	20	25.05
	100	20	23.85
8	100	40	21.61
	100	40	21.32
9	100	60	15.71
	100	60	15.36
10	300	20	23.23
	300	20	23.15
11	300	40	18.75
	300	40	18.65
12	300	60	15.02
	300	60	15.23
13	600	20	15.58
	600	20	15.57
14	600	40	12.34
	600	40	11.41
15	600	60	9.79
	600	60	10.57

【0029】

表 1 に示すように、掲記したグルコース濃度とヘマトクリット濃度との組み合わせのほぼすべてを 2 回試験した。表 1 で報告し、図 3 に示した移相對ヘマトクリット濃度の試験は、811 Hz の周波数で実施した。試験は、Bayer 社の Glucometer DEX（登録商標）システムで、3 パス試薬電気化学的センサを使用して実施した。この電気化学的センサを 150 mV の印加電位で作動させた。ヘマトクリット濃度（容量%）を x 軸に標定し、それに対し、移相（度で計測）を y 軸に標定した。図 3 は、少なくとも 811 Hz の周波数でグルコース濃度に関して移相に変化があることを示す。図 3 はまた、ヘマトクリット濃度に関して移相に変化があることを示す。

【0030】

図 4 は、全血試料のインピーダンス（Z）対ヘマトクリット濃度のグラフである。いくつかのグルコース濃度：0 mg/dL、50 mg/dL、100 mg/dL、300 mg/dL 及び 600 mg/dL を試験した。各グルコース濃度を図 4 で別々に標定した。図 4 のグラフを形成するのに使用した個々のデータ点を以下の表 2 に一覧する。

【 0 0 3 1 】

【 表 2 】

表 2

試験 No.	グルコース濃度 (mg/dL)	ヘマトクリット濃度 (容量%)	インピーダンス (Hz)
16	0	20	2811.9
	0	20	3169.6
17	0	40	4852.9
	0	40	4645.2
18	0	60	8147.0
	0	60	7906.8
19	50	20	3380.6
	50	20	3243.4
20	50	40	4742.4
	50	40	4731.5
21	50	60	8165.8
	50	60	7709.0
22	100	20	3311.3
	100	20	3380.6
23	100	40	4808.4
	100	40	4786.3
24	100	60	8531.0
	100	60	8109.6
25	300	20	3265.9
	300	20	3235.9
26	300	40	4764.3
	300	40	4709.8
27	300	60	8165.8
	300	60	8590.1
28	600	20	3281.0
	600	20	3273.4
29	600	40	5046.6
	600	40	4731.5
30	600	60	8356.0
	600	60	8629.8

【 0 0 3 2 】

表 2 に示すように、掲記したグルコース濃度とヘマトクリット濃度との組み合わせすべてを 2 回試験した。表 2 で報告し、図 4 に示したインピーダンス対ヘマトクリット濃度の試験は、9661 Hz の周波数で実施した。試験は、Bayer 社の Glucometer DEX（登録商標）システムで、3 パス試験電気化学的センサを使用して実施した。この電気化学的センサを 150 mV の印加電位で作動させた。ヘマトクリット濃度（容量%）を X 軸に標定し、それに対し、インピーダンス（オームで計測）を Y 軸に標定した。図 4 は、少なくとも 9661 Hz の周波数でヘマトクリット濃度に関してインピーダンスに変化があることを示す。図 4 は、少なくとも 9661 Hz の周波数でインピーダンスの大きさがグルコース濃度に依存しないことを示すように思われる。

【 0 0 3 3 】

本発明の具体的な実施態様及び応用を例示し、説明したが、本発明が本明細書で開示した正確な構造及び構成に限定されず、請求の範囲で定義する発明の本質及び範囲を逸することなく種々の変形、変更及び改変が前記記載から明らかになるということが理解されよ

う。

【図面の簡単な説明】

【0034】

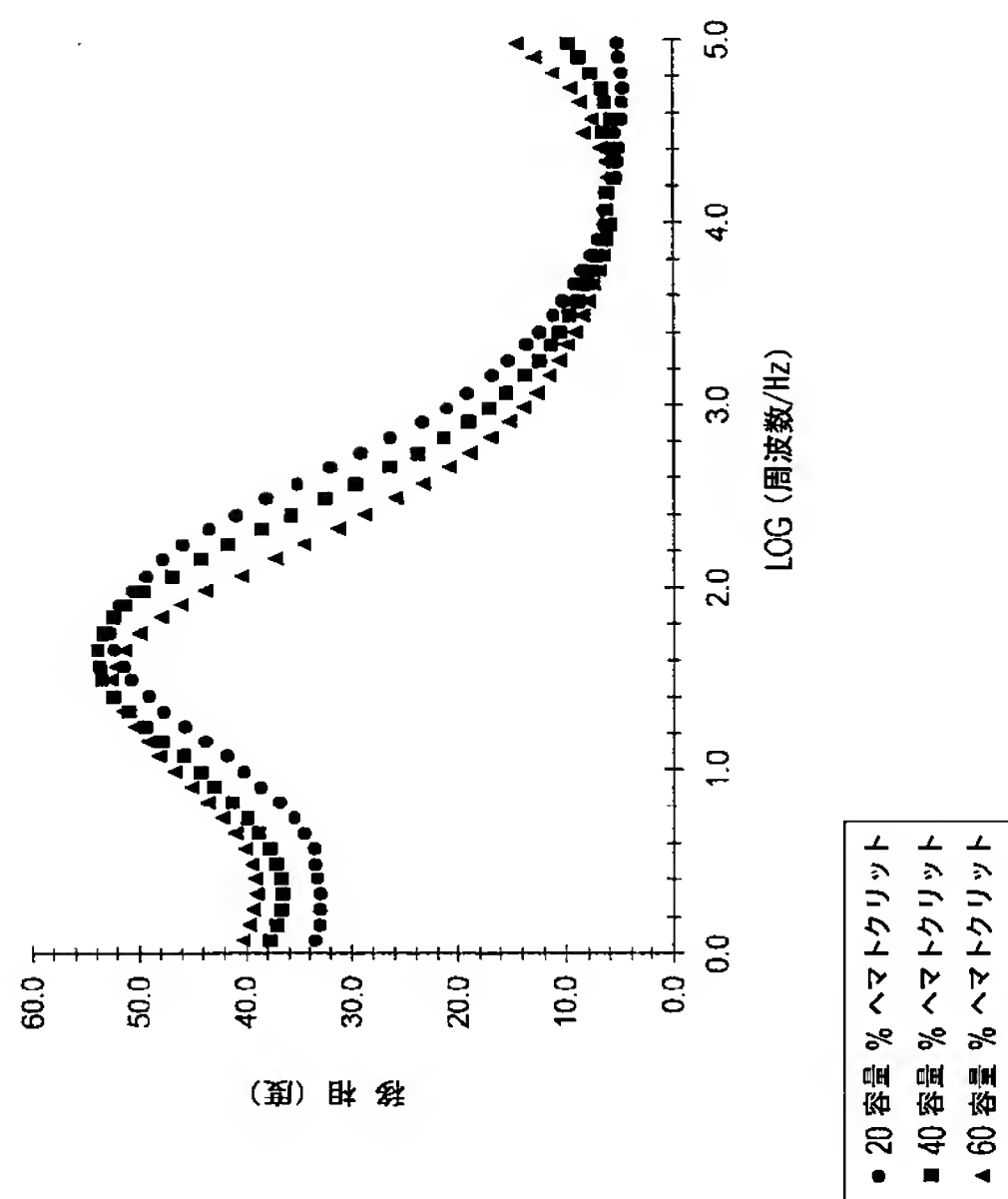
【図1】一つのグルコース濃度及び変化するヘマトクリット濃度を有する全血試料の移相対周波数のグラフである。

【図2】一つのグルコース濃度及び変化するヘマトクリット濃度を有する全血試料のインピーダンス対周波数のグラフである。

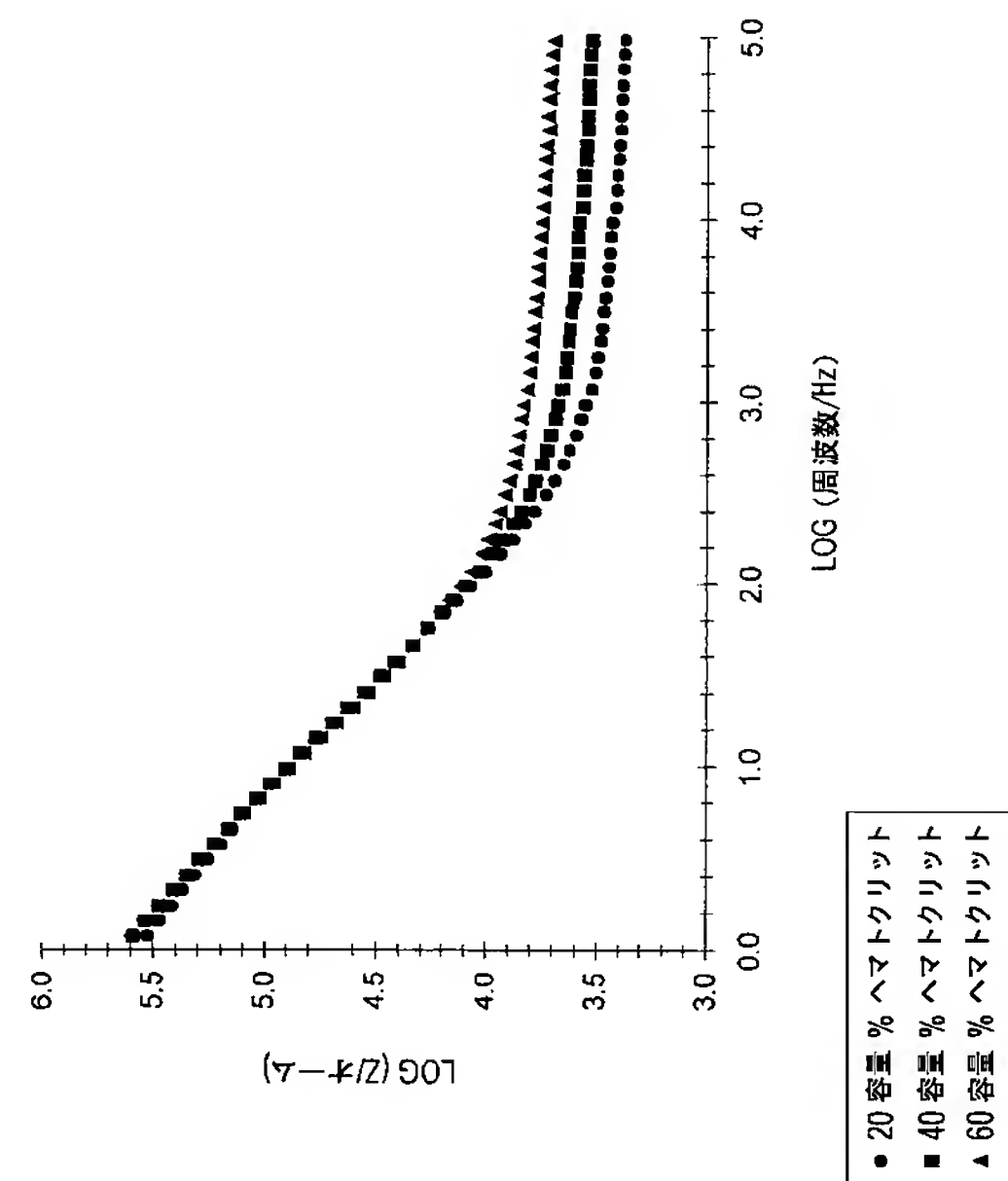
【図3】一つの周波数で変化するグルコース濃度を有する全血試料の移相対ヘマトクリット濃度のグラフである。

【図4】一つの周波数で変化するグルコース濃度を有する全血試料のインピーダンス対ヘマトクリット濃度のグラフである。

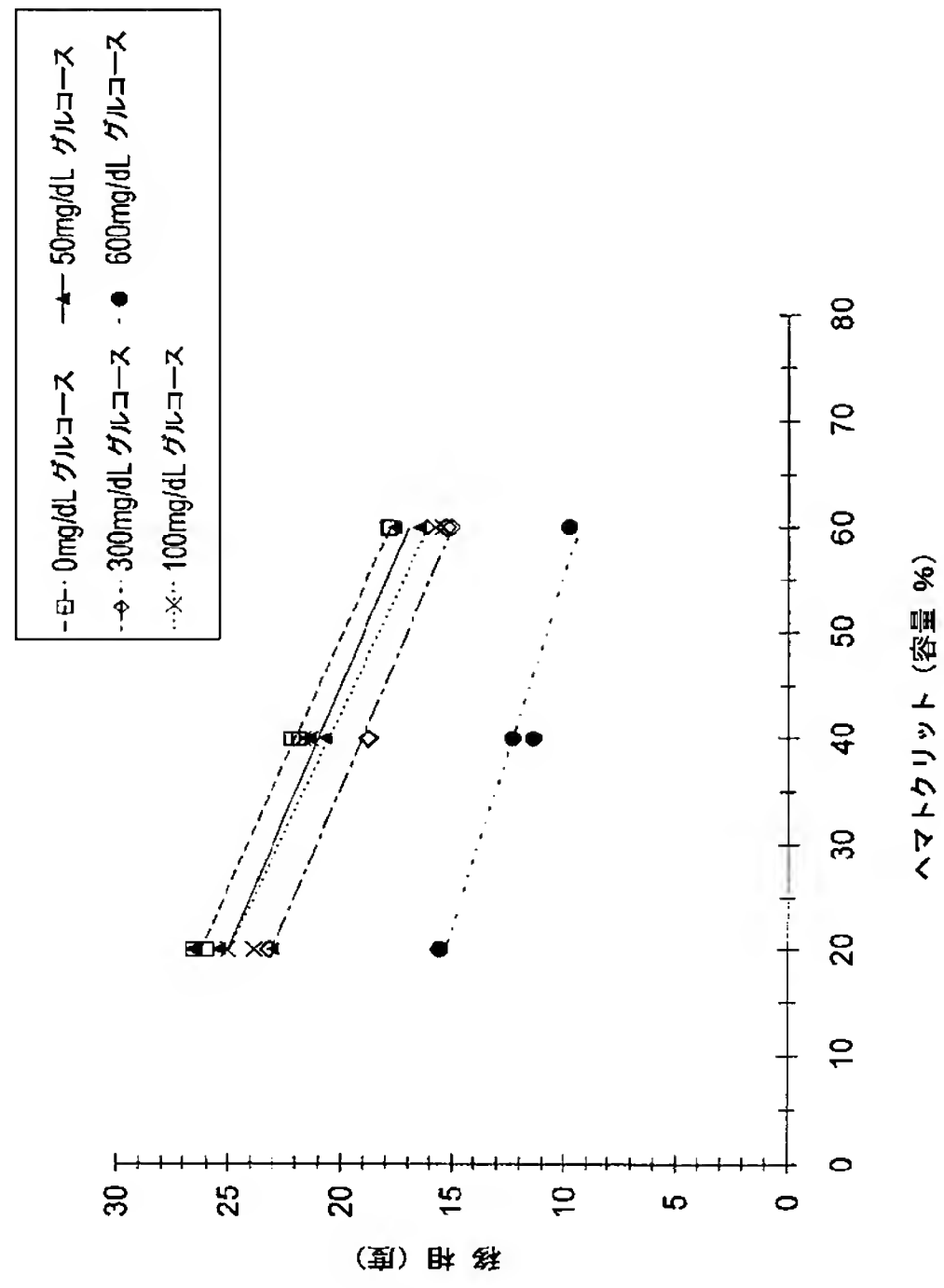
【図1】



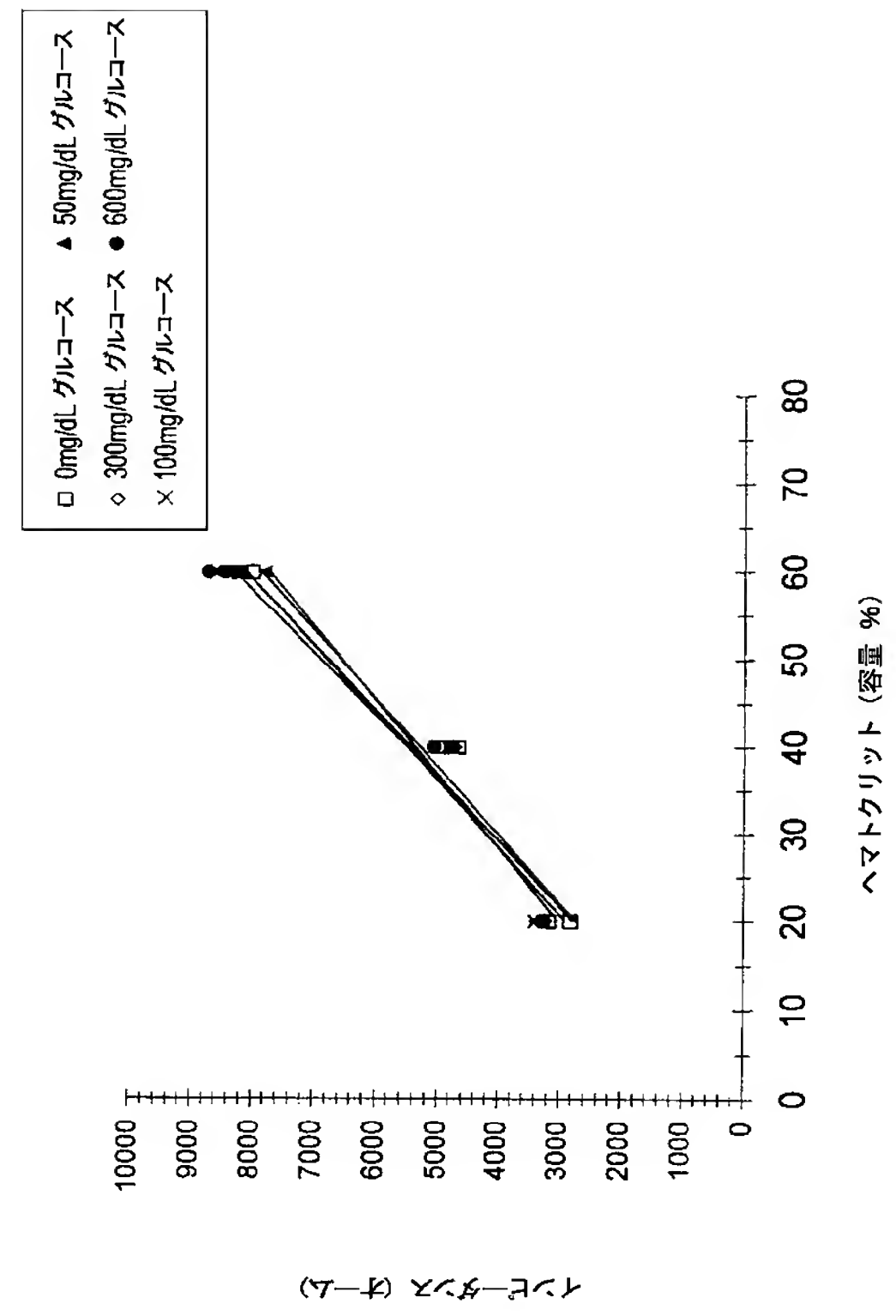
【図2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(72)発明者 マーク・エス・ブレーク

アメリカ合衆国、テキサス 77070、ヒューストン、セダー・ポイント 14603

(72)発明者 マービン・エイ・ゲンショウ

アメリカ合衆国、インディアナ 46514、エルクハート、ネフ・ストリート 2905

(72)発明者 ブライアン・エス・メル

アメリカ合衆国、インディアナ 46514、エルクハート、ベイ・ポイント・ドライブ 348
1-3エイ

Ｆターム(参考) 2G045 AA01 CA25 DA31 FB05 HA09 JA01

2G060 AA07 AD06 AE17 AF06 FA01 HA02 HC13 HE03 KA06

【外国語明細書】

1. Title of Invention

**METHODS OF DETERMINING GLUCOSE CONCENTRATION
IN WHOLE BLOOD SAMPLES**

2. Detailed Description of Invention

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates generally to methods of determining glucose concentration in whole blood samples and, more specifically, methods of determining glucose concentration in whole blood samples using hematocrit concentration.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Individuals have attempted to determine glucose concentration in whole blood samples for a number of years. The determination of glucose concentration in whole blood samples is important in a variety of applications. For example, determining and monitoring glucose concentration are important for diabetics in reducing risks and improving quality of life. The results of such tests can be used to determine what, if any, insulin or other medication needs are to be administered.

Glucose concentration in whole blood samples can be difficult to determine because of the biasing associated with the whole blood hematocrit concentration. The hematocrit concentration is the concentration of red blood cells in the whole blood sample. Variations in the hematocrit concentration of whole blood samples result in bias to the glucose concentration measurements. The bias to the glucose concentrations can be significant such as, for example, a 1% bias per 1% change in the hematocrit concentration.

Typical sensors used to measure the glucose concentration of a whole blood sample are dependent upon the hematocrit concentration thereof. Attempts have been made to minimize or eliminate the bias in the glucose concentration of a whole blood sample by modifying the chemistry in the glucose sensor. One example of modifying the chemistry is lysing the blood. Lysing the blood involves breaking up the red blood cells and exposing the contents of the cell. By breaking up the red blood cells, the chemical reaction in the sensor that measures the glucose concentration occurs faster. These

attempts have generally reduced the effect of the hematocrit concentration upon the measured glucose concentration, but they generally produce less than ideal results in determining the actual glucose concentrations. Another disadvantage of lysing the blood is the additional time needed to perform the testing process. Additionally, lysing the blood may expose contents of cells that potentially interfere with measuring the glucose concentration. —

Other attempts have involved removing the red blood cells from the whole blood sample before measuring the glucose concentration. Such removal methods are more complicated than simply measuring the glucose concentration without removing the red blood cells. Additionally, such techniques are more difficult when using smaller amounts of whole blood such as those used in the disposable self-testing market.

Other attempts to minimize or eliminate the bias in the glucose concentration readings have included separately measuring the hematocrit concentration from the glucose concentration. The hematocrit measurements of the whole blood sample have been performed using a conductivity measurement. These attempts have various disadvantages such as requiring separate electrodes to measure the hematocrit and glucose concentrations. Furthermore, while this approach may be suitable for at least some clinical analyzers, it is cost prohibitive for the disposable self-testing market.

It would be desirable to have a method that obtains a more accurate glucose concentration from a whole blood sample.

SUMMARY OF THE INVENTION

The glucose concentration in a whole blood sample may be determined according to one method by providing an electrochemical sensor adapted to measure glucose and hematocrit concentrations. The hematocrit concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor via electrochemical impedance spectroscopy. The initial glucose concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor. The unbiased glucose concentration in the whole blood sample is calculated using the initial glucose concentration measurement and the hematocrit concentration.

The glucose concentration in a whole blood sample may be determined according to one method by providing an electrochemical sensor adapted to measure glucose and hematocrit concentrations. The hematocrit concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor via electrochemical impedance spectroscopy using an amperometric monitoring system. The initial glucose concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor. The unbiased glucose concentration in the whole blood sample is calculated using the initial glucose concentration measurement and the hematocrit concentration.

DETAILED DESCRIPTION OF THE ILLUSTRATED EMBODIMENT

The present invention is directed to determining the glucose concentration in whole blood samples. The whole blood sample comprises plasma and red blood cells. In determining the glucose concentration, the hematocrit concentration (red blood cell concentration) of the whole blood sample is also determined because the glucose concentration varies based upon the hematocrit concentration. By compensating for the hematocrit concentration, a more accurate glucose concentration of the whole blood sample can be calculated.

The glucose concentration of the whole blood sample may be determined by using an electrochemical sensor according to one embodiment of the present invention. It is important that the electrochemical sensor provides reliable and reproducible

measurements. An example of an electrochemical sensor is a sensor that may be used in an amperometric monitoring system. Examples of an electrochemical sensor that can be used to measure glucose concentrations are those used in Bayer Corporation's Glucometer DEX® and ELITE® systems.

According to one embodiment, an electrochemical sensor comprises an insulating base plate having provided thereon an electrode system. The electrode system comprises at least an electrode for measurement and a counter electrode. On the electrode system, a reaction layer is included that contains a biosensing or reagent material, such as an enzyme, and an electron acceptor. The enzyme of the reaction layer may be combined with a hydrophilic polymer. A cover may be used to mate with the base plate to form a space including the reaction layer. A whole blood sample is introduced into the space via an introducing port. Gas is discharged from the space by the inflow of the whole blood sample via a discharge port. It is believed that the glucose in the whole blood sample reacts with the enzyme by the action of the glucose oxidase carried on the electrodes to produce hydrogen peroxide. A voltage is applied (*e.g.*, 1V) between the electrodes and the electrode for measurement is polarized in the anode direction. By applying a voltage in the anode direction, an oxidizing current for the produced hydrogen peroxide is obtained. This current level corresponds to the concentration of glucose in the whole blood sample.

More details on such an electrochemical sensor may be found in U.S. Patent Nos. 5,120,420 and 5,320,732 which are both incorporated by reference in their entirety. One or more electrochemical sensor may be purchased from Matsushita Electric Industrial Company. It is contemplated that other electrochemical sensors may be used in the present invention. For example, an electrochemical sensor is disclosed in U.S. Patent No. 5,798,031, which is incorporated by reference in its entirety. A further example of an electrochemical sensor that may be used in an amperometric monitoring system is disclosed in U.S. Patent No 5,429,735. It is contemplated that other sensors may be used in the present invention.

The electrochemical sensors may be located in a blood glucose sensor dispensing instrument that is adapted to have loaded therein a sensor pack that includes a plurality of

sensors or testing elements. Each of the sensors is adapted to be ejected from the sensor pack. One example of a sensor pack loaded in a sensor dispensing instrument is disclosed in U.S. Patent No. 5,660,791.

To reduce any bias of the initial glucose concentration resulting from variations in the hematocrit concentration of the whole blood sample, the hematocrit concentration is preferably first measured. It is contemplated, however, that the hematocrit concentration may be measured before measuring the initial glucose concentration of the whole blood sample. The hematocrit concentration needs to be measured because the electrochemical sensors used to measure the initial glucose concentration are dependent upon the hematocrit concentration of the whole blood sample. The greatest sensitivity in accurately measuring the glucose concentration of the whole blood sample occurs at higher glucose levels (*e.g.*, 250 or 400 mg/dL). At such glucose levels, a lower or higher percentage of hematocrit (*e.g.*, 20 vol.% or 70 vol.% hematocrit) causes substantial deviation between the initial glucose concentration measurement and the actual glucose concentration as compared to an average hematocrit concentration (*e.g.*, 40 vol.% hematocrit).

It is believed that the impact of a whole blood sample's hematocrit concentration on the measured glucose concentration is consistent in electrochemical sensors in amperometric monitoring systems. This consistency of the hematocrit concentration on the measured glucose concentration occurs in both disposable amperometric monitoring systems and clinical analyzers as well. Thus, the bias, if any, can be corrected by measuring the hematocrit concentration and subsequently adjusting the initial glucose measurement.

The hematocrit concentration is determined using the same electrochemical sensor that determines the initial glucose concentration of the whole blood sample. According to one embodiment, the hematocrit concentration is determined using electrochemical impedance spectroscopy (EIS) that is integrated in the glucose monitoring system, such as the above described amperometric monitoring system. EIS is essentially a solution impedance measurement covering a single frequency or a plurality

of frequencies. The higher the measured impedance of the whole blood sample, the higher the concentration of hematocrit therein.

Electrochemical sensors may be used by applying AC waveforms from generally about 1 to about 10,000 Hz. It is contemplated that the AC waveforms may be higher than 10,000 Hz. The AC waveforms may vary in voltage but are generally from about 1 to about 100 mV and, more specifically, from about 3 to about 30 mV. The AC waveforms are either discrete frequencies or co-added waveforms that are subsequently deconvoluted using a Fourier Transform (FT) routine. The Fourier Transform approach is desirable because it significantly reduces measurement time versus other techniques. It is contemplated that techniques other than the Fourier Transform may be used to assist in ultimately determining the hematocrit concentration.

Alternatively, or in addition to using one or more frequency measurements, a phase shift and/or magnitude of an impedance measurement may also be used to measure the hematocrit concentration. The resulting phase shift and/or magnitude of the impedance are measured at each frequency. The AC waveform is superimposed on a bias voltage of, for example, 150mV, the applied potential at which an electrochemical sensor may be operated. By comparing the phase shift and/or magnitude of an impedance measurement, the hematocrit concentration can be determined. It is desirable to use a frequency or frequencies in which the phase shift and/or magnitude of an impedance measurement can be easily differentiated between hematocrit concentrations.

Examples of frequencies that may be used with measuring the phase shift of an impedance measurement include those from about 800 to 900 Hz. It is contemplated that other frequency or frequencies may be used in measuring phase shift of an impedance measurement. Examples of frequencies that may be used with measuring the magnitude of an impedance measurement include those from about 300 to about 10,000 Hz. It is contemplated that other frequency or frequencies may be used in measuring the magnitude of an impedance measurement.

After the hematocrit concentration is determined, it is used to correct the bias, if any, associated with the initial glucose concentration measurement in the whole blood sample. The relationship or bias, if any, between the hematocrit concentration and the

initial glucose concentration measurement may be stored in a calibration table. The calibration table is typically generated using a number of hematocrit concentrations and initial glucose concentration measurements. By correcting for any bias caused by the hematocrit concentration on the initial glucose measurement, a more accurate whole blood glucose measurement is determined.

The method for more accurately determining glucose concentrations by reducing or eliminating any bias caused by hematocrit concentration may be performed in disposable self-testing systems. The disposable self-testing systems are often used by end consumers, especially those who are diabetic. Alternatively, the method for more accurately determining glucose concentrations by reducing or eliminating any bias caused by the hematocrit concentration may be performed in clinical analyzers. Clinical analyzers are often used in hospitals or clinics.

The present invention is especially desirable with neonates (newborn children that are less than one month old). Neonates typically have fairly high blood hematocrit concentrations (normal ranges from about 55 vol.% to 65 vol.%). One of medical conditions that may occur in neonates, as well as adults, is hypoglycemia. With respect to hypoglycemia, the decision point in neonates is lower than that of adults (40 mg/dL vs. 60 mg/dL). The combination of lower glucose concentrations with higher hematocrit concentrations may lead to highly inaccurate initial glucose readings caused from the bias of the hematocrit concentrations. Thus, the present invention is desirable in determining the glucose concentration in the whole blood sample of neonates.

The testing end of the sensor is adapted to be placed into contact with the whole blood sample to be tested. The whole blood sample may be generated by a lancing device such as a microlet. The lancing device may obtain blood by, *e.g.*, pricking a person's finger. According to one process, the whole blood sample may be prepared for testing by (a) removing the electrochemical sensor from packet, (b) placing the electrochemical sensor into a glucose concentration measuring instrument, (c) generating a whole blood sample and (d) bringing the sensor and the whole blood sample into contact wherein the blood is generally drawn into the sensor by capillary action. _

Examples

Several plots have been prepared to show the relationships between (a) hematocrit level and (b) phase shift, glucose concentration, frequency and impedance.

FIG. 1 is a plot of phase shift versus frequency of whole blood samples. The whole blood samples had a glucose concentration of 300 mg/dL and the hematocrit concentration was either 20 vol.%, 40 vol.% or 60 vol.%. The tests were performed on Bayer Corporation's Glucometer DEX® system with a three-pass reagent electrochemical sensor. The electrochemical sensor was operated at an applied potential of 150mV. The frequency (measured in Hertz) was plotted logarithmically along the x-axis versus the phase shift (measured in degrees) which was plotted along the y-axis. FIG. 1 shows that there are many frequencies that result in distinct phase shifts between varying hematocrit concentrations. It is desirable to chose a frequency in which the phase shift is more pronounced between varying levels of hematocrit concentrations.

FIG. 2 is a plot of impedance (Z) versus frequency of whole blood samples. The whole blood samples had a glucose concentration of 100 mg/dL and the hematocrit concentration was either 20 vol.%, 40 vol.% or 60 vol.%. The tests were performed on Bayer Corporation's Glucometer DEX® system with a three-pass reagent electrochemical sensor. The electrochemical sensor was operated at an applied potential of 150mV. The frequency (measured in Hertz) was plotted logarithmically along the x-axis versus the impedance (measured in ohms) which was plotted logarithmically along the y-axis. FIG. 2 shows that there are many frequencies that result in distinct impedance measurements between varying hematocrit concentrations. It is desirable to chose a frequency, such as the higher frequencies, in which the impedance measurements are more pronounced between varying levels of hematocrit concentrations.

FIG. 3 is a plot of phase shift versus hematocrit concentration of whole blood samples. There were several glucose concentrations that were tested: 0 mg/dL, 50mg/dL, 100 mg/dL, 300 mg/dL and 600 mg/dL. Each of the glucose concentrations was plotted separately in FIG. 3. The individual data points that were used in forming the plot of FIG. 3 are listed in Table 1 below.

Table 1

Test No.	Glucose Concentration (mg/dL)	Hematocrit Concentration (vol. %)	-Phase Shift (deg)
1	0	20	26.02
	0	20	26.52
2	0	40	21.75
	0	40	22.07
3	0	60	17.78
	0	60	17.67
4	50	20	22.98
	50	20	25.43
	50	20	26.56
5	50	40	21.34
	50	40	20.58
6	50	60	16.35
	50	60	17.46
7	100	20	25.05
	100	20	23.85
8	100	40	21.61
	100	40	21.32
9	100	60	15.71
	100	60	15.36
10	300	20	23.23
	300	20	23.15
11	300	40	18.75
	300	40	18.65
12	300	60	15.02
	300	60	15.23
13	600	20	15.58
	600	20	15.57
14	600	40	12.34
	600	40	11.41
15	600	60	9.79
	600	60	10.57

As shown in Table 1, almost all of the recited glucose concentration and hematocrit concentration combinations were tested twice. The testing of the phase shift versus hematocrit concentrations reported in Table 1 and plotted in FIG. 3 was done at a frequency of 811 Hz. The tests were performed on Bayer Corporation's Glucometer DEX® system with a three-pass reagent electrochemical sensor. The electrochemical sensor was operated at an applied potential of 150mV. The hematocrit concentration (vol.%) was plotted along the x-axis versus the phase shift (measured in degrees) which was plotted along the y-axis. FIG. 3 shows that there is a variation in the phase shift with

glucose concentration at a frequency of at least 811 Hz. FIG. 3 also shows that there is a variation in the phase shift with respect to the hematocrit concentration.

FIG. 4 is a plot of impedance (Z) versus hematocrit concentration of whole blood samples. There were several glucose concentrations that were tested: 0 mg/dL, 50mg/dL, 100 mg/dL, 300 mg/dL and 600 mg/dL. Each of the glucose concentrations was plotted separately in FIG. 4. The individual data points that were used in forming the plot of FIG. 4 are listed in Table 2 below.

Table 2

Test No.	Glucose Concentration (mg/dL)	Hematocrit Concentration (vol. %)	Impedance (Hz)
16	0	20	2811.9
	0	20	3169.6
17	0	40	4852.9
	0	40	4645.2
18	0	60	8147.0
	0	60	7906.8
19	50	20	3380.6
	50	20	3243.4
20	50	40	4742.4
	50	40	4731.5
21	50	60	8165.8
	50	60	7709.0
22	100	20	3311.3
	100	20	3380.6
23	100	40	4808.4
	100	40	4786.3
24	100	60	8531.0
	100	60	8109.6
25	300	20	3265.9
	300	20	3235.9
26	300	40	4764.3
	300	40	4709.8
27	300	60	8165.8
	300	60	8590.1
28	600	20	3281.0
	600	20	3273.4
29	600	40	5046.6
	600	40	4731.5
30	600	60	8356.0
	600	60	8629.8

As shown in Table 2, all of the recited glucose concentration and hematocrit concentration combinations were tested twice. The testing of the impedance versus hematocrit concentrations reported in Table 2 and plotted in FIG. 4 was done at a frequency of 9661 Hz. The tests were performed on Bayer Corporation's Glucometer DEX® system with a three-pass reagent electrochemical sensor. The electrochemical sensor was operated at an applied potential of 150mV. The hematocrit concentration (vol.%) was plotted along the x-axis versus the impedance (measured in ohms) which was plotted along the y-axis. FIG. 4 shows that there is a variation in impedance with respect to the hematocrit concentration at a frequency of at least 9661 Hz. FIG. 4 appears to show that the magnitude of the impedance is independent of the glucose concentration at a frequency of at least 9661 Hz.

While particular embodiments and applications of the present invention have been illustrated and described, it is to be understood that the invention is not limited to the precise construction and compositions disclosed herein and that various modifications, changes, and variations may be apparent from the foregoing descriptions without departing from the spirit and scope of the invention as defined in the appended claims.

8. Brief Description of Drawings

FIG. 1 is a plot of phase shift versus frequency of whole blood samples with a single glucose concentration and varying hematocrit concentrations.

FIG. 2 is a plot of impedance versus frequency of whole blood samples with a single glucose concentration and varying hematocrit concentrations.

FIG. 3 is a plot of phase shift versus hematocrit concentration of whole blood samples at a single frequency with varying glucose concentrations.

FIG. 4 is a plot of impedance versus hematocrit concentration of whole blood samples at a single frequency with varying glucose concentrations.

1. Claims

1. A method of determining glucose concentration in a whole blood sample comprising:

providing an electrochemical sensor adapted to measure glucose and hematocrit concentrations;

measuring the hematocrit concentration of the whole blood sample using the electrochemical sensor via electrochemical impedance spectroscopy;

measuring the initial glucose concentration of the whole blood sample using the electrochemical sensor; and

calculating the unbiased glucose concentration in the whole blood sample using the initial glucose concentration measurement and the hematocrit concentration.

2. The method of claim 1, wherein the glucose concentration of the whole blood sample is determined using an amperometric monitoring system.

3. The method of claim 1, wherein the electrochemical sensor includes an insulating base plate, an electrode system on the base plate and a cover adapted to mate with the base plate to form a space in which the electrode layer is available to contact the whole blood sample.

4. The method of claim 3 further including a reaction layer comprising an enzyme that reacts with the glucose in the whole blood sample.

5. The method of claim 4, wherein the enzyme in the reaction layer is combined with a hydrophilic polymer.

6. The method of claim 1, wherein the method of determining glucose concentration in a whole blood sample occurs in disposable self-testing systems.

7. The method of claim 1, wherein the method of determining glucose concentration in a whole blood sample occurs in a clinical analyzer.

8. The method of claim 1, wherein the measuring of the hematocrit concentration in the whole blood sample is performed before measuring the initial glucose concentration.

9. The method of claim 1, wherein the measuring of the hematocrit concentration of the whole blood sample is performed using a single frequency measurement.

10. The method of claim 1, wherein the measuring of the hematocrit concentration of the whole blood sample is performed using a plurality of frequency measurements.

11. The method of claim 1, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed using a phase shift of an impedance measurement.

12. The method of claim 11, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed with at least one frequency between about 800 and about 900 Hz.

13. The method of claim 1, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed using magnitude components of an impedance measurement.

14. The method of claim 13, wherein the measuring of the hematocrit is performed with at least one frequency between about 300 and about 10,000 Hz.

15. The method of claim 1 further including applying AC waveforms from about 1 to about 10,000 Hz to the electrochemical sensor.

16. The method of claim 1 further including applying AC waveforms from about 1 to about 100mV to the electrochemical sensor.

17. The method of claim 1 further applying AC waveforms that are subsequently deconvoluted using a Fourier transform.

18. A method of determining glucose concentration in a whole blood sample comprising:

providing an electrochemical sensor adapted to measure glucose and hematocrit concentrations;

measuring the hematocrit concentration of the whole blood sample using the electrochemical sensor via electrochemical impedance spectroscopy using an amperometric monitoring system;

measuring the initial glucose concentration of the whole blood sample using the electrochemical sensor; and

calculating the unbiased glucose concentration in the whole blood sample using the initial glucose concentration measurement and the hematocrit concentration.

19. The method of claim 18, wherein the method of determining glucose concentration in a whole blood sample occurs in disposable self-testing systems.

20. The method of claim 19, wherein the measuring of the hematocrit concentration of the whole blood sample is performed using a single frequency measurement.

21. The method of claim 19, wherein the measuring of the hematocrit concentration of the whole blood sample is performed using a plurality of frequency measurements.

22. The method of claim 19, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed using a phase shift of an impedance measurement.

23. The method of claim 22, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed with at least one frequency between about 800 and about 900 Hz.

24. The method of claim 19, wherein the measuring of the hematocrit concentration is performed using magnitude components of an impedance measurement.

25. The method of claim 24, wherein the measuring of the hematocrit is performed with at least one frequency between about 300 and about 10,000 Hz.

26. The method of claim 19 further including applying AC waveforms from about 1 to about 10,000 Hz to the electrochemical sensor.

27. The method of claim 19 further including applying AC waveforms from about 1 to about 100mV to the electrochemical sensor.

28. The method of claim 19 further applying AC waveforms that are subsequently deconvoluted using a Fourier transform.

1. Abstract

The glucose concentration in a whole blood sample may be determined by providing an electrochemical sensor adapted to measure glucose and hematocrit concentrations. The hematocrit concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor via electrochemical impedance spectroscopy. The initial glucose concentration of the whole blood sample is measured using the electrochemical sensor. The unbiased glucose concentration in the whole blood sample is calculated using the initial glucose concentration measurement and the hematocrit concentration.

2. Representative Drawing9

None

Fig. 1

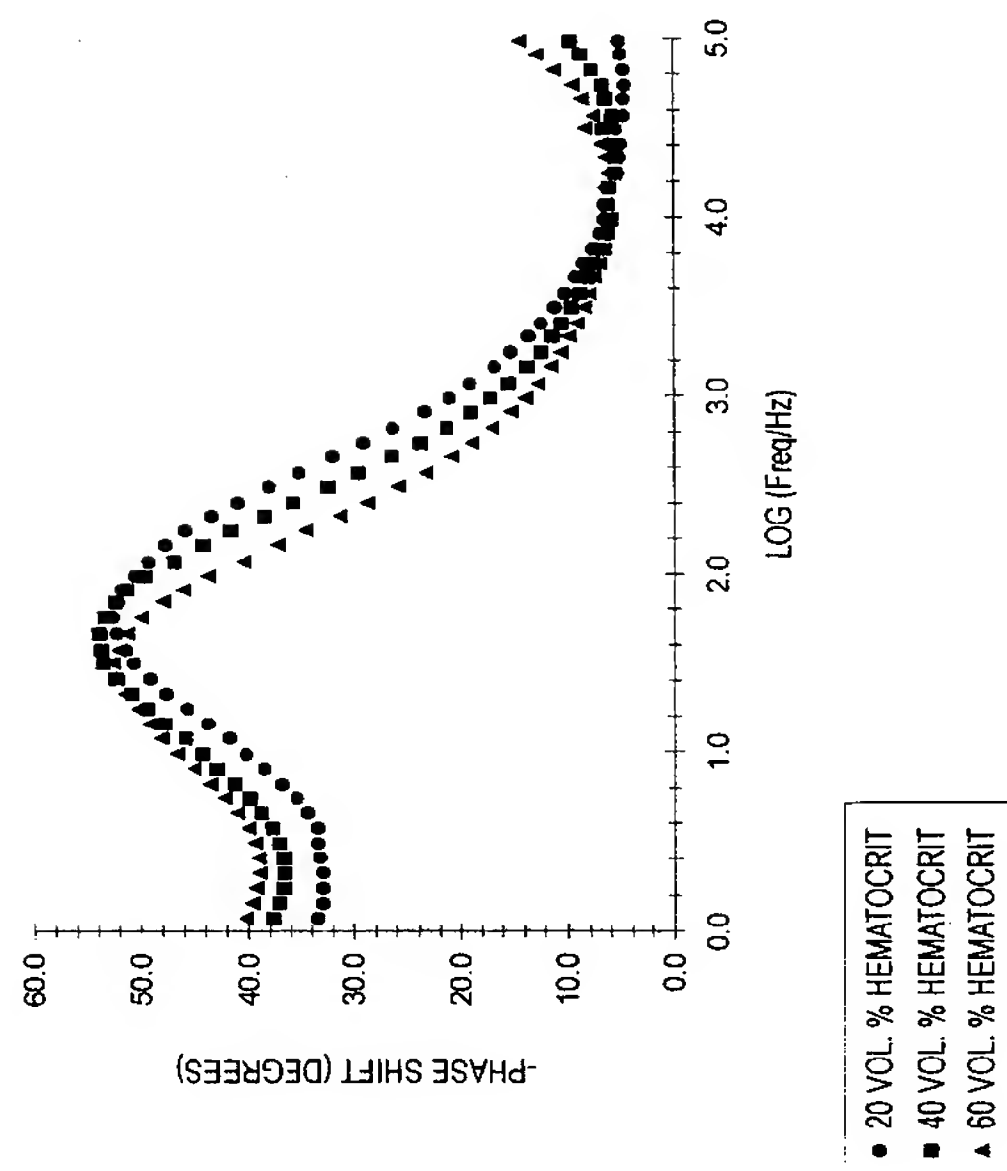


Fig. 2

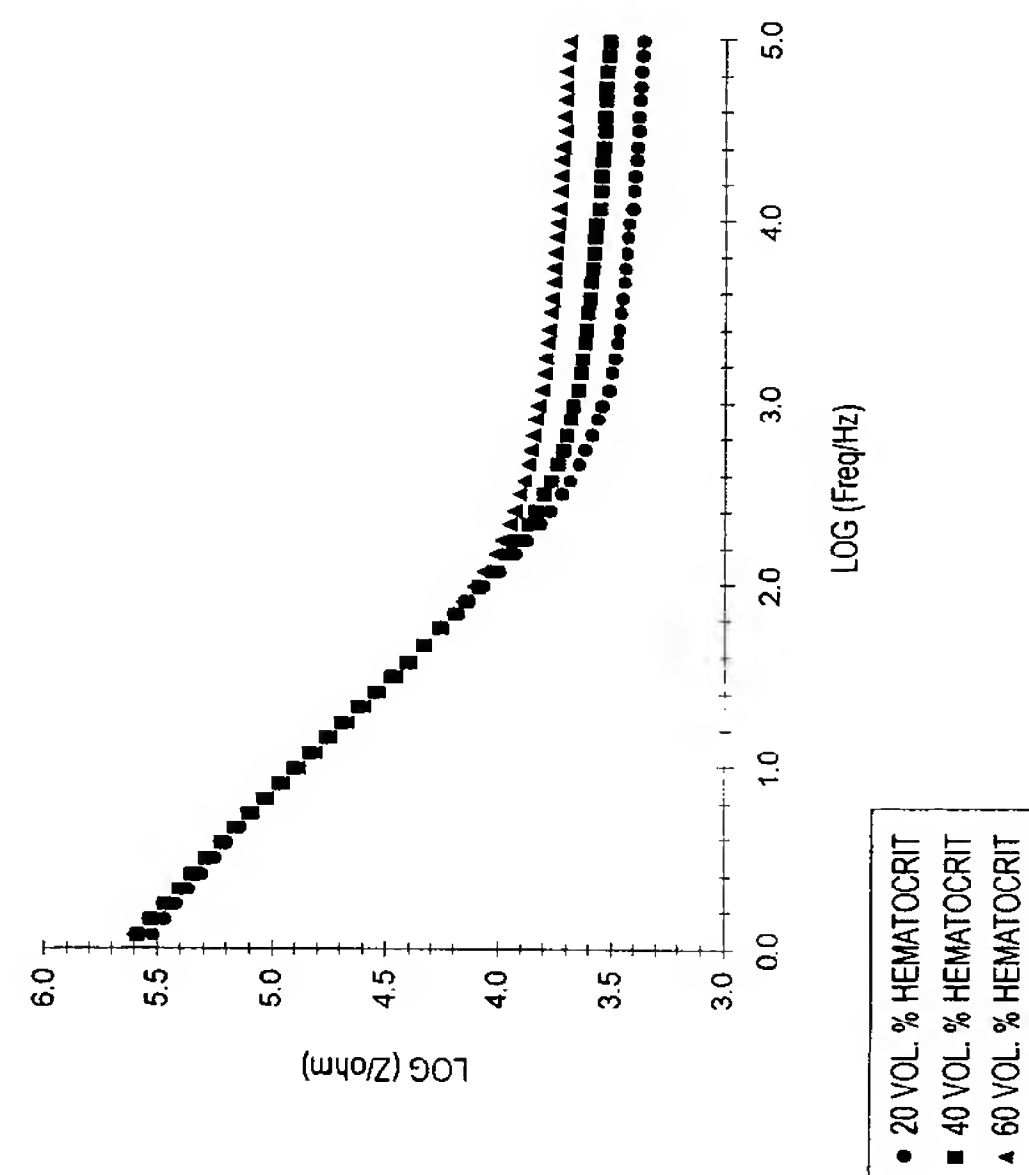


Fig. 3

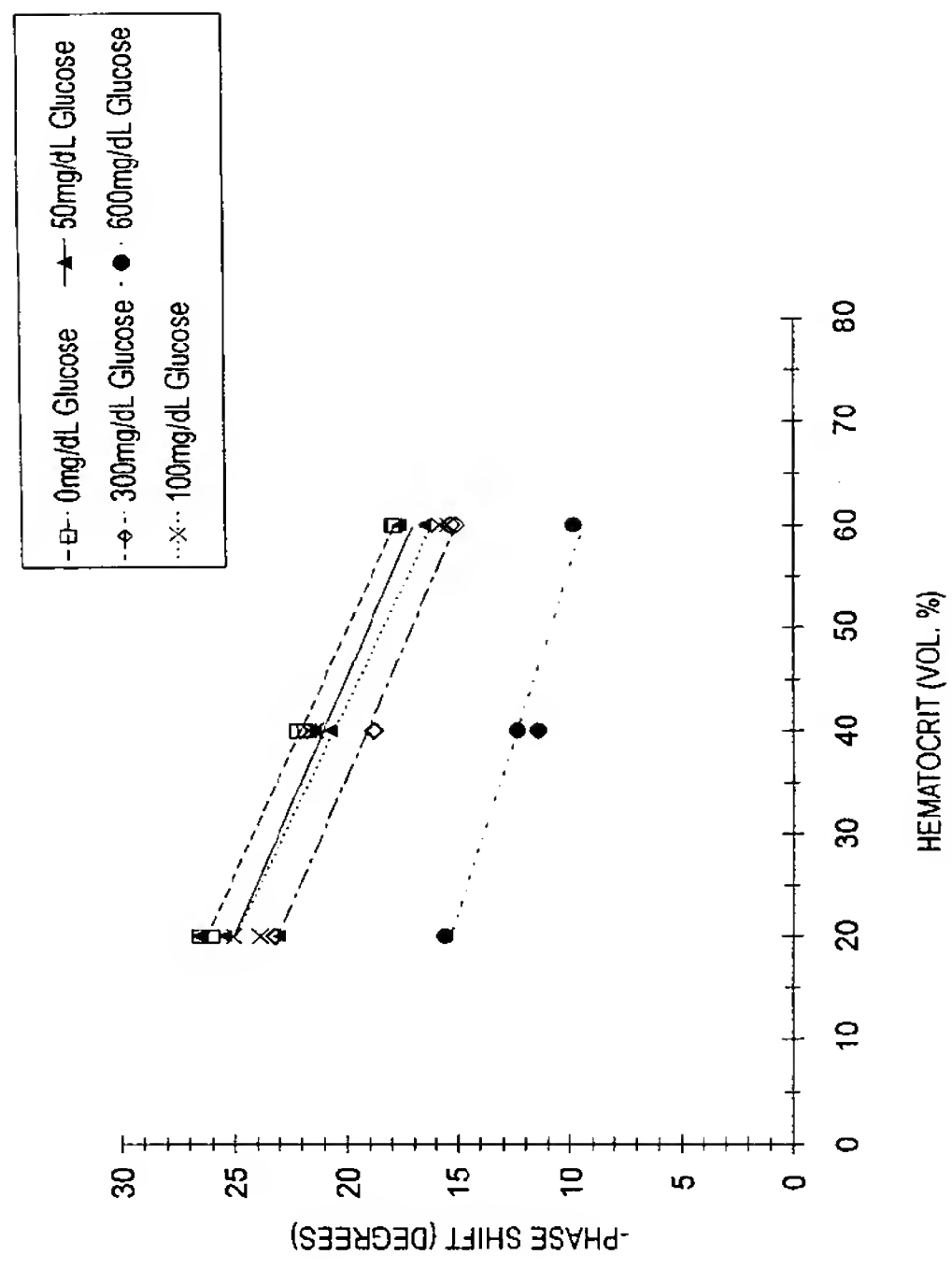


Fig. 4

